

2010 年度 修士論文要旨

SUMO 化修飾による分裂酵母 Swi6 の機能制御機構の解明

関西学院大学大学院理工学研究科

生命科学専攻 田中研究室 山辺 史貴

SUMO (Small Ubiquitin-related Modifier) は真核生物に高度に保存された翻訳後修飾因子であり、ユビキチン様タンパク質の一つとして知られ、標的基質の構造や局在の変化に関与している。分裂酵母では唯一の SUMO として Pmt3 が知られており、Swi6 K103 を修飾することが報告された。Swi6 は、N 末端領域、Chromodomain、Intervening region (Hinge 領域)、Chromo-shadowdomain の 4 つの領域で形成され、ヘテロクロマチン形成を介してサイレンシングに関与している。これまでに、Swi6 の SUMO 化は、脱 SUMO 化酵素 *ulp1* 破壊株に成熟化 SUMO を導入した条件下で検出されていた。しかし筆者の卒業研究において Swi6 の SUMO 化は、*ulp1* 破壊に加えて *ulp2* を破壊しなければ検出できないこと、また K103 は主な SUMO 化部位ではないことを明らかにした。そこで改めて、大腸菌を宿主とした *in vivo* SUMO 化再構成系、および分裂酵母内における Swi6 の SUMO 化領域の同定を試みた結果、N 末端領域、Chromodomain、Hinge 領域に SUMO 化部位が存在する可能性を明らかにした。さらに、分裂酵母の E3 リガーゼ *nse2*、*pli1* 遺伝子の変異および欠損株を用いて、Swi6 の E3 リガーゼの同定を試みた結果、Nse2 が Swi6 の E3 リガーゼであることが分かった。そして、Swi6 の Hinge 領域において SUMO 化が見られたことから、Hinge 領域の機能と SUMO 化の関係を検証した。ヒト HP1 の Hinge 領域は、RNA 結合活性を持つことが知られている。そこで Swi6 の RNA 結合活性を第二セントロメア由来の一本鎖 RNA をプローブとして RNA ゲルシフト法で検証した結果、Swi6 も Hinge 領域において RNA 結合能を示すことが分かった。また、Swi6 の 143 番目から 145 番目の Lys 残基、Arg 残基、Lys 残基 (K143、R144、K145) が RNA 結合能に重要な部位であることを明らかにした。さらに Swi6 の Hinge 領域の持つ核酸結合活性の特異性を検証した結果、Swi6 の Hinge 領域は一本鎖 RNA および二本鎖 DNA に対しても配列非特異的に結合活性を示すことが分かった。加えて、マウス HP1 α も Hinge 領域が核酸結合活性に重要であることが分かった。そして、Swi6 は major groove を介して DNA と結合することが示唆された。

これらのことから、分裂酵母において Swi6 は Nse2 依存的に、N 末端領域、Chromodomain、Hinge 領域が SUMO 化されることが示唆された。また、Swi6 は 143 番

目から 145 番目のアミノ酸を介して、配列非特異的に核酸と結合することが分かった。